

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：87401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24350080

研究課題名(和文) 海水中における水銀の有機化(メチル化)反応に及ぼす環境要因の影響に関する研究

研究課題名(英文) Study of influences on environmental factors as for mercury methylation in Minamata Bay

研究代表者

松山 明人(Matsuyama, Akito)

国立水俣病総合研究センター・その他部局等・その他

研究者番号：00393463

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：現在の水俣湾に堆積する底質中の総水銀に関する加重平均濃度は2.3ppmであり、堆積している底質の全体量は3.4トン程度と推定される。一方、溶存態メチル水銀濃度に影響すると予想される環境因子は水温、塩分濃度、溶存態酸素、溶存態炭素濃度であると思われる。又、200Lの大型水槽を用いた室内実験が、これら環境因子を用いた組み合わせ実験をベースに実施された。組み合わせ実験に関する環境因子は海水温30、15、塩分濃度3.0%、1.5%、水銀濃度は100ng/L(塩化第二水銀を添加)である。結果、水温30度、塩分濃度1.5%の組み合わせが、明らかにメチル水銀濃度が上昇した。

研究成果の概要(英文)：Weighted average total mercury concentration in sediment that is accumulated in current Minamata Bay is 2.3ppm, then a mass of remained mercury in Minamata bay is estimated to 3.4 ton. On the other hand, environmental factors that affected to the dissolved methylmercury concentration in seawater were estimated to temperature, salinity, DO (dissolved oxygen), DOC(dissolved organic carbon). Also, the room experiment that utilized a large aquarium(200L) was performed based on the combination experiment using these environmental factors. The combination experiment as for environmental factors are as follows: Seawater temperature 30、15、Salinity 3.0%、1.5%. Mercury concentration was 100ng/L(HgCl₂ was added). As a result, the dissolved methylmercury concentration increased using the case of 30 and 1.5% definitely.

研究分野：Environmental Science

キーワード：メチル水銀 総水銀 メチレーション 水俣湾 底質 水質 環境因子

1. 研究開始当初の背景

魚の水銀蓄積は、食物連鎖による取り込みや鰓、体表面を通して直接、海水から吸収され、人が主に食する筋肉中の水銀の大半(90%以上)がメチル水銀である。人の水銀曝露は主に魚食を通して行われるが、多くのメチル水銀を魚食により体内へ取り込むと、妊婦の場合には影響が出現する可能性が指摘されている。一方、過去7年間に亘る水俣湾研究の結果、これまでの定説であったメチル水銀の起源は深海域の底質とその周辺だけでなく、深海に比べ酸化的条件が強い、数十m程度の浅海域でも条件が揃えばメチル水銀が生成し、魚類へ影響する可能性があることが分かった。これらの事実は、世界でも独自の魚食文化を有する日本民族にとって重要な問題である。

2. 研究の目的

我が国の海洋中における水銀の挙動解明に関する研究について先ず重要なことは、浚渫暫定基準(25 ppm)を念頭に置き、海洋中における水銀のメチル化反応を正確に評価出来るようにする事である。即ち、本研究の目的は、海洋中の底質や他環境から供給される水銀の主な化学的形態とその量が、どのような海洋環境条件の下でメチル化するののかについて、日本沿岸の浅海域を対象に海洋モニタリング及び実験的な検討を行い、各環境条件の影響度を正確に把握することにある。このような実験的な検討の実施によって、重要な基礎データが今後蓄積されれば、海洋中における水銀のメチル化を予測し、現在から未来における海洋域の水銀に関する安全性評価も将来的に可能になるものと考えられる。

3. 研究の方法

(1) 水俣湾水質モニタリング



図 - 1 水俣湾・採水ポイント

水俣湾水質モニタリングは毎月1回大潮・下げ潮最強時に実施した。主な分析項目等、各種実験条件を以下に示す。

1) 深度別採水

St. 1~3の3地点。

・St. 1, 2は5層(0 m, 6 m, 10 m, 海底面上1 m, 及び0.1 m)。

・St. 3は4層(0 m, 6 m, 海底面上1 m, 及び0.1 m)から採水。

2) 測定項目

採水試料測定(深度別に測定)

溶存態総水銀(diss-THg)、溶存態メチル水銀(diss-MeHg)、懸濁物質中総水銀(SS-THg)、懸濁物質重量(SS重量)、懸濁物質中メチル水銀(SS-MeHg)

現場水質測定(深度別に測定)

塩分、水温、濁度、溶存酸素濃度(DO)、海水密度(ρ_t)、クロロフィルa、SS粒度分布、ORP、pH

以上、船上から直接水質センサーによる測定を実施した。

他に栄養塩として以下の内容を測定した。

硝酸態窒素($\text{NO}_3 + \text{NO}_2$)、亜硝酸態窒素(NO_2)、アンモニア(NH_4)、リン酸(PO_4)、NPOC(溶存態炭素)、尚分析はJIS法に鑑み、フローセル方式の連続流れ分析とした。

(2) 水俣湾底質の採取

図-2に示す採取ポイントにおいて、コアサンプリングにより底質試料を採取した。但し、砂質系底質の場合については、エクマンバジにより表層の底質のみを採取した。本計画のメッシュ幅は200mであり、昭和62年に実施された熊本県による調査と同じ試料採取間隔とした。最終的に110の底質試料を採取した。コア試料については、底質表面より下2.5cm間隔でコアをカットし、全体で717試料を得ることができた。

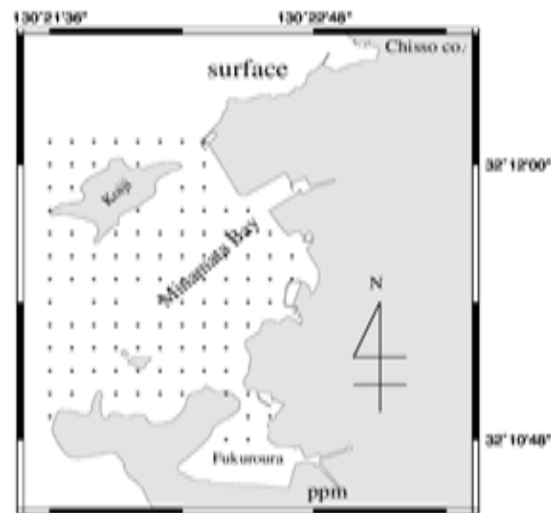


図 - 2 水俣湾底質コア採取ポイント
(採泥ポイント間は200m)

(3) 室内水槽実験

実験用海水は水俣湾・湾奥部水深-6mより採取した。採取当日中に運搬後、200L容ガラス製水槽に海水を入れ、この中に塩化第二水銀溶液を徐々に加え、水銀として100ng/Lになるよう調製した(写真-1)。調製後、水槽の中に取り付けられたテフロン製スクリーを低速で実験期間中連続回転させ、水槽内の水銀を均一化させた。本実験系は九州大学工学部内、実験施設に設置された。

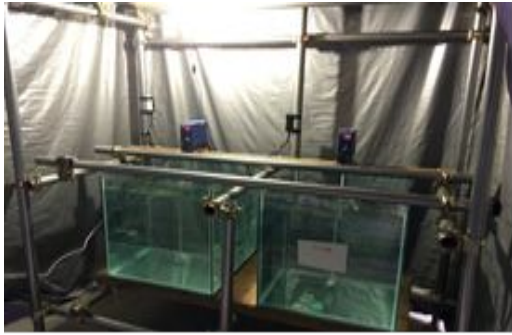


写真-1 九州大学に設置稼働中のモデル水槽

(4) 水俣湾水質分析結果の統計解析

2006年～2010年までの5年間の水質データについて統計解析を実施した。統計解析にはSPSS ver. 13日本語版を用い、単回帰の他に重回帰解析として、海水中の溶存態メチル水銀濃度を従属変数、水温や塩分濃度等を独立変数として解析を行った。

(5) 水俣湾海水中の微生物群集解析

水俣湾海水より集菌した微生物からDNAを抽出し、真正細菌の16S rRNA遺伝子を標的としたpolymerase chain reaction (PCR) - 変性剤濃度勾配電気泳動 (DGGE) 法を実施した。PCR-DGGE法より得られたゲル画像を基に、バンドの位置と濃さを指標として、各レーンのバンドパターンの類似性の相関について多次元尺度法による統計処理を行い、各海水試料中における細菌叢を比較した。

4. 研究成果

(1) 水質モニタリング結果の統計解析

2006年から2010年までの水俣湾海水・各種分析データをSPSS ver. 13を用いて、重回帰分析及び単回帰分析を行い、海水中における水銀のメチレーションに関する検討を実施した。重回帰分析に供した分析項目は以下に示す12種類で、溶存態メチル水銀、海水温、塩分濃度、溶存酸素濃度(DO)、pH、クロロフィルa、濁度、海水密度(t)、 $\text{NO}_3 + \text{NO}_2$ 、 NH_4 、 PO_4 、溶存態炭素(NPOC)とした。その結果、溶存態メチル水銀濃度を主とする単回帰結果では、1%水準での有意確率項目は、海水温($r=0.422$, $n=556$)、塩分濃度($r=0.313$, $n=560$)、DO($r=0.379$, $n=560$)、海水密度($r=0.450$, $n=544$)、 NH_4 ($r=0.283$, $n=357$)、NPOC($r=0.210$, $n=228$)であった。重回帰分析では、最初にステップワイズ法による検討を行い、この結果に化学的な根拠から、新たに要因を追加し強制投入法で解析を行った。尚、解析はSPSSで設定されている通常条件で行った(有意確率5%水準を投入し、10%水準の変数は除外する)。結果としてステップワイズ法では、塩分濃度およびNPOCの組み合わせで $R=0.623$ 、 $R^2=0.388$ が得られた。VIF値及び許容度も全て2以下、0.9以上で多重共線性に問題はなかった。しかし単回帰の結果では、海水温と溶存態メチル水銀濃度との相関が最も高い値と

なっていること、また海洋中におけるメチレーションは化学及び微生物による生物反応が深く係わっていることが知られており¹⁾、一般的に温度が高くなれば反応が促進されることが期待できることから、海水温を独立変数として組込むべきと考え、強制投入法で検討してみた。その結果、 $R=0.580$ 、 $R^2=0.329$ が得られた。他方、一般に海水温と良好な負の相関関係を持つDO($r=-0.623$, $n=603$)を海水温に代えて独立変数として加えた場合、 $R=0.702$ 、 $R^2=0.493$ を得られた。

投入済み変数または除去された変数 ^b

モデル	投入済み変数	除去された変数	方法
1	塩分濃度 NPOC, DO		投入

a. 必要な変数がすべて投入されました。

b. 従属変数: DISSMEHG

モデル集計

モデル	R	R二乗	調整済みR Square	推定値の標準誤差
1	.702 ^a	.493	.486	.79E-02

a. 予測値: (定数)、塩分濃度, NPOC, DO。

< SPSS による出力結果 >

(2) 水俣湾底質の総水銀濃度分布

水俣湾では過去3回、海底に堆積している底質中の総水銀濃度に関する調査が熊本県により実施されている。これらの中では昭和62年(1987年)に実施された海底面表層の底質調査が最も最近のものであり、水俣湾浚渫工事終了後にその効果を確認するために実施された(図-3)。今回の水俣湾底質調査は、これより数えて25年を経て、地元水俣漁協の要望もあり本格的に実施された。結果として、採取コア試料より得られた全体717カット試料の総水銀濃度平均値は2.3ppmであった。表層のみの平均値は3.2ppmであった。前述の熊本県が行った調査では、底質表層の全体平均値が4.7ppmであったことから、表層濃度は若干の減少傾向が認められた。結果として分析用試料717試料中、国の底質中水銀濃度に関する暫定基準25ppmを超過する試料は認められなかった。図-4に本調査結果の一部について可視化して示す。

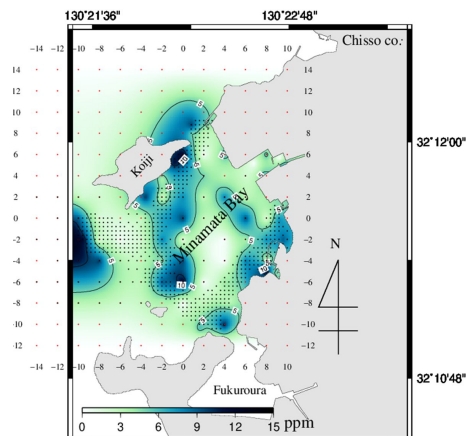


図-3 1987年水俣湾・浚渫工事終了後調査結果(表層のみ)

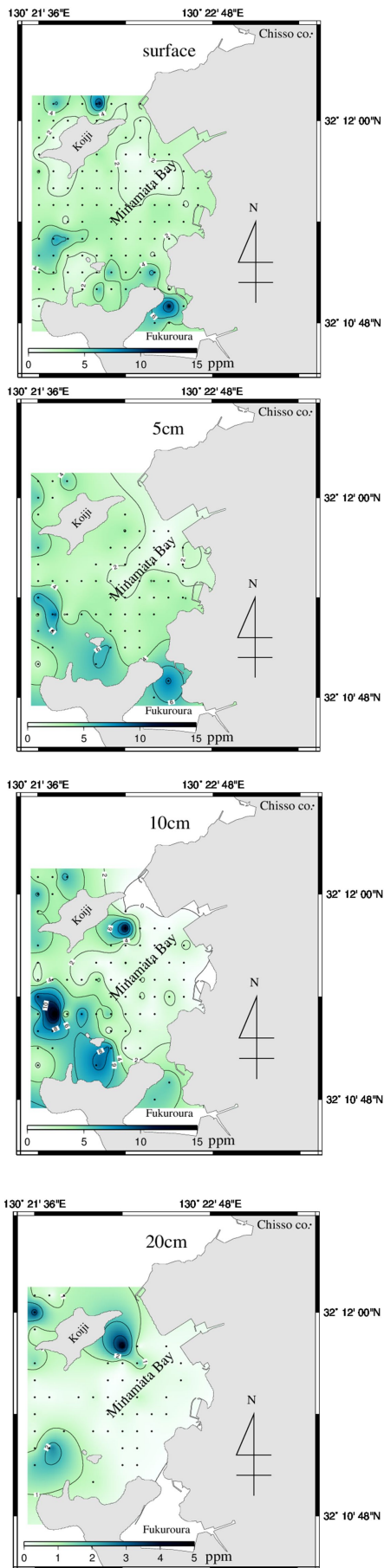


図 - 4
水俣湾底質中における総水銀の鉛直分布

又、図 - 5 に示す総水銀濃度の鉛直分布より、今回調査した水俣湾の範囲内における総水銀量は 3.4 トン程度と推定された。富安ら¹⁾の調査では 1 トン弱程度と見積もられているが、この結果との相違については、調査範囲の大小に由来するものと考えている。

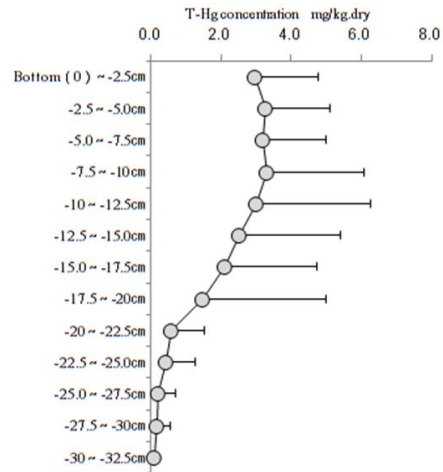


図 - 5
水俣湾底質における総水銀濃度の鉛直分布

(3) 室内水槽実験

この結果をふまえ実際の九州大学での室内モデル水槽実験では、溶液の DO を事前調整して実施することは難しいことから、DO の経時変化を確認することを前提に、海水温を因子として採用し、塩分濃度、海水温、NPOC (DOC) の 3 要因で実験を開始した。実験用海水是水俣湾・湾奥部水深 - 6 m より採取した。尚、実験は海水成分の季節変動を考慮し、各季節で最低 1 回は採水を実施するようにした。採取後運搬し、200 L 容ガラス製水槽に海水を入れ、この中に塩化第二水銀溶液を水銀として 100 ng/L になるよう調製して加えた(写真 - 1)。実際には懸濁物との吸着等によって減少し、溶存態総水銀濃度としては 15~20 ng/L であった。次にこれまで行った室内水槽モデル実験結果の一例を示す。これまでの水質モニタリングの特徴として水俣湾では水深 - 6 m 前後付近で溶存態メチル水銀濃度が上昇することが多いことから、本実験系ではまず、光を与えない暗条件で実験を実施することとした。塩分濃度 1.5%、3.0% 海水温 15、30 の 2 段階で NPOC(DOC) は添加していない条件で 1 週間培養し、溶存態メチル水銀濃度の経時変化を測定した結果を図 - 6 に示す。図 - 6 より、塩分濃度を通常の半分に希釈し、海水温を高く設定すれば、DO 濃度も徐々に低下し、培養の初期段階(培養 3 日目)において急激な溶存態メチル水銀濃度の上昇を確認することができた。ただしその後は濃度が減少し、1 週間後には検出されなかった。この結果は赤木ら²⁾が過去において、底質の存在下に行った水槽実験や、Igor ら³⁾が行ったアイソトープを利用した水

槽実験結果と類似している。即ち各実験結果において、メチル水銀濃度が最大となった経過時間は異なるが、最大に上昇した後、急激に濃度は減少し安定化するという傾向は同様であった。

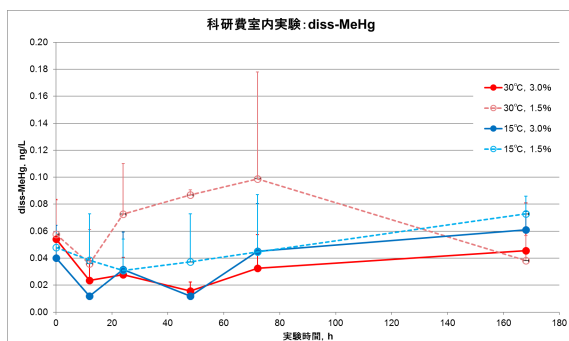


図 - 6 室内水槽実験結果 (九州大設置)

(4) 水俣湾海水中的の微生物群集解析

平成 24 年度に採水した水俣湾海水試料中の微生物群集の時系列的変化について検討を行った。多次元尺度法による解析グラフ上のプロットは各海水中的の細菌叢を表しており、プロット間の距離が近いほど菌叢の類似性が高いことを意味する。多次元尺度法による解析結果は、いずれの採水場所 (St.) 及び深度において、夏季から冬季にかけての細菌叢が変動していることを示していた。しかしながら、今回の実験期間中において、水俣湾海水中的の溶存態メチル水銀濃度に大きな変動が認められなかったことから、上記の示す意味は直接メチレーションに関与する海洋微生物の群集変動ではなく、群集変動そのものが季節的に存在していることを意味していると考えられる (図 - 7)。今回の実験期間ではチャンスに恵まれなかったが、実験手法としては確立することができたので、今後も海洋微生物に関する検討を継続していく予定である。

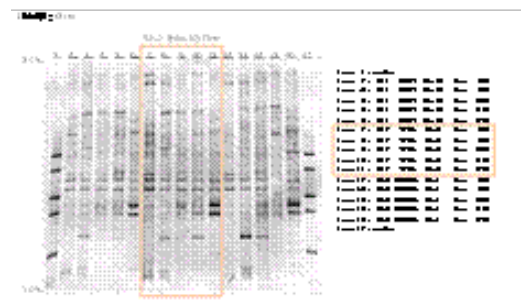


図 - 7 DGGE 法・解析結果

<引用文献>

- 1) Tomiyasu T, Matsuyama A, Oki K, Kodamatani H, Takenaka S, Noguchi N, Kono Y, Kanzaki R, Akagi H (2013) Estimation of the residual total mercury in marine sediments of Minamata Bay after a pollution prevention project, Japan. *Marine Chemistry*

159:19-24.

- 2) J. R. Ikingura, H. Akagi (1998) Methylmercury production and distribution in aquatic systems. *the Science of Total Environment* 234:109-119
- 3) Igor Lehnher, Vincent. St. Louis, Holger Hintelman and Jane kirk (2011) Methylation of inorganic mercury in polar marine waters, *Nature geoscience letters*, vol4:298-302.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Matsuyama A, Yano S, Hisano A, Kindaichi M, Sonoda I, Tada A, Akagi H (2014) Reevaluation of Minamata Bay, 25 years after the dredging of mercury-polluted sediments. *Marine Pollution Bulletin* 89:112-120.

矢野真一郎, 川瀬颯人, 久野彰大, Herawaty RIOGILANG, 松山明人, 多田彰秀 (2014) 水俣湾における底泥輸送とバロクリニック構造との関係の数値モデルによる検討, *土木学会論文集 B2 (海岸工学)*, Vol.70, No.2: I_416-I_420.

Tomiyasu T, Matsuyama A, Oki K, Kodamatani H, Takenaka S, Noguchi N, Kono Y, Kanzaki R, Akagi H (2013) Estimation of the residual total mercury in marine sediments of Minamata Bay after a pollution prevention project, Japan. *Marine Chemistry* 159:19-24.

[学会発表](計 5 件)

Matsuyama A, Sonoda I, Yano S, Tada A, Tai A, Akagi H Reconfirmation of mercury methylation in seawater column based on the continuous mercury monitoring at Minamata Bay for 2 years, 13th International conference on mercury as a global pollutant 2013 Aug (Edinburgh).

[図書](計 3 件)

松山明人, 矢野真一郎 (2014) 水銀に関する水俣条約と最新対策・技術(高岡昌輝 監修),シーエムシー出版, pp.62-68.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松山 明人 (Matsuyama, Akito)

環境省国立水俣病総合研究センター・室長
研究者番号: 00393463

(2) 研究分担者

矢野 真一郎 (Yano, Shinichiro)
九州大学・大学院 工学研究院・教授
研究者番号：80274489

多田 彰秀 (Tada, Akihide)
長崎大学・大学院 工学研究科・教授
研究者番号：90144328

永野 匡昭 (Nagano, Masaaki)
環境省国立水俣病総合研究センター・主任
研究員
研究者番号：10393464

田井 明 (Tai, Akira)
九州大学・大学院 工学研究院・特任助教
研究者番号：20585921

岩崎 一弘 (Iwasaki, Kazuhiro)
国立環境研究所・地域環境センター・主任
研究員
研究者番号：30193717

(3) 連携研究者

富安 卓滋 (Tomiyasu, Takashi)
鹿児島大学・理工学研究科・教授
研究者番号：60217552